
Enterični Gram negativni štapići - Enterobacteriaceae.

Familija *Enterobacteriaceae* je najveća i najheterogenija grupa medicinski značajnih bacila čije je prirodno stanište intestinalni trakt ljudi i životinja. U okviru familije postoji 27 rodova i preko 100 vrsta bakterija, a za kliničku mikrobiologiju je značajno nekoliko rodova sa dvadesetak vrsta, od kojih su neki normalni komensali crevnog sistema čoveka (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*), a drugi isključivo paraziti (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*). Pripadnici ove familije su uglavnom pokretni gram negativni kratki bacili koji su asporogeni. Kapsula je prisutna kod nekih rodova (*Klebsiella*), dok je neki rodovi ne produkuju. Mogu biti i aerobi i fakultativni anaerobi, sa prostim nutritivnim potrebama. Na agaru formiraju okrugle kolonije ravnih ivica koje usled prisustva kapsule mogu imat sluyavu konzistenciju. Fermentišu glukozu, redukuju nitrate, katalaza su pozitivne i oksidaza negativne (ova osobina je bitna za uztvrđivanje pripadnosti ovoj familiji). Za identifikaciju do roda ove familije, uzorci se zasejavaju na diferencijalne i selektivne podloge poput MacConkey agara ili žučnog agara (na njemu rastu samo *Shigella* i *Salmonella* ali ne i komensali). U ove svrhe (identifikacija enteričnih bakterija), razvijeno je više podloga od kojih je voma česta upotreba trostuki šećer gvožđe agara (TSA -Triple Sugar Iron Agar), koji služi za diferencijaciju *Salmonella* i *Shigella* od ostalih enteričnih Gram negativnih bacila u uzorcima fecesa. Ova podloga sadrži tri vrste šećera, glukozu, laktozu i saharozu, gvožđe sulfat (za detekciju produkcije H₂S), pH indikator fenol crveno i i ekstrakt tkiva kao izvor proteina za rast bakterija i razliva se u epruveti kao kosi agar sa slojem dubokog agara.

Ukoliko bakterije fermentišu samo glukozu, kosina i duboki deo najpre dobijaju žutu boju usled slabe produkcije kiseline, ali se nakon toga fermentacioni produkti oksidišu do CO₂ i H₂O i nestaju dok se usled osidativne dekarboksilacije proteina formiraju amini, pa podloga dobija crvenu boju. Ukoliko se fermentišu laktoza ili saharoza, dolazi do velike produkcije kiseline pa i kosina i duboki deo podloge ostaju žuti. Salmonele i šigele tipično produkuju alkalnu (crvenu) kosinu i kiseli (žuti) duboki deo podloge. Iako *Proteus*, *Providencia* i *Morganella* takođe imaju isti izgled na TSA agaru, mogu se identifikovati zasejavanjem na Kristensen urea agaru. Bakterije koje produkuju alkalnu (crvenu) kosinu a kiselinu i gas u dubini podloge pripadaju ostalim enteričnim bakterijama.

Serološka klasifikacija pripadnika ove familije se vrši na osnovu somatskih O ANTIGENA (lipopolisaharida spoljašnje membrane), kapsularnih K antigena i flagelarnih H antigena. Svaki O antigen (lipopolisaharid) je termostabilan i ima tri komponente:

1. O polisaharid, antigen koji je varijabilan (rod)
2. Polisaharidni stabilni molekul koji je zajednički za sve *Enterobacteriaceae*
3. Lipid A je treća komponenta, koja je endotoksin

Faktori virulencije (patogenost) Enterobacteriaceae.

U ove faktore spadaju **kapsula**, koja omogućava izbegavanje imunog odgovora domaćina. Kapsula štiti organizme od fagocitoze svojom hidrofilnošću, kojom se odbijaju hidrofobni makrofazi. Takođe, njeno prisustvo ometa rad antitela jer maskira antigene na površini bakterija. **Endotoksin** je prisutan kod svih aerobnih i nekih anaerobnih gram negativnih bakterija. Dejstvo endotoksina se dešava nakon smrti i lize ćelije bakterija, a posledica su mnoge sistemske manifestacije koji se dešavaju pri infekciji ovim organizmima. Pored endotoksina, pripadnici ove familije proizvode mnoge **egzotoksine**, od kojih su najznačajniji enterotoksini, šiga toksin i hemolizini. Još jedan factor virulencije enterobakterija su razni **faktori adhezije**, čija je funkcija pričvršćivanje za ćelije domaćina, a što je omogućeno uz pomoć više tipova fimbrija. Neki pripadnici familije *Enterobacteriaceae* su sposobni da prežive napade imunskog sistema i antibiotika tako što su fakultativni intracelularni paraziti koji imaju mogućnost **unutarćelijskog preživljavanja i razmnožavanja**. U njih spadaju *Yersinia*, *Shigella*, enteroinvazivna *Escherichia coli* i *Salmonella*. Pored ovoga, razne bakterije imaju efikasne sisteme za ubacivanje faktora virulencije u ciljne eukariotske ćelije. **Sekretorni sistem tipa III** se sastoji od oko 20 proteina koji omogućavaju ovaj proces, a i odsustvu ovog sistema, virulencija je značajno umanjena. Kada rastu u organizmu domaćina, bakterije obezbeđuju mikroelemente tako što ih kompetitivnim molekulima preuzimaju od domaćina (**obezbeđivanje faktora rasta preuzimanjem**). Tako se gvožđe, inače vezano za hem ili gvožđe vezujuće molekule (transferin, laktoferin) u domaćinu preuzima od strane bakterija molekulima koji su bakterijski gvožđe-vezujući molekuli ili siderofori (enterobaktin, aerobaktin).

Escherichia coli

Rod *Escherichia* ima 5 vrsta, a vrsta *E. coli* je najčešća i jedina patogena u rodu. Ona je povezana sa jako ozbiljnim oboljenjima poput sepse, neonatalnog meningitisa, a izuzetno su česti uzročnici urinarnih infekcija i trovanja hranom. Vrsta je pozitivna na indol, lizin dekarboksilazu, manitol i formira gas iz glukoze. Oksidaza negativne. Karakteristični su po fermentaciji laktoze i manitola, pozitivnom testu na indol, lizin dekarboksilazu i specifičnom metalik sjaju na selektivnim podlogama poput Endo ili EMB agara.

Klinički sindromi izazvani E. coli

INFEKCIJE URINARNOG TRAKTA (UTI). Smatra se da je ova vrsta odgovorna za preko 80% ovih infekcija i preko 90% prvih infekcija kod mladih žena. Sojevi koji vrše infekciju potiču iz intestinalnog trakta, a povećana virulencija postoji kod njih u vidu sposobnosti adherencije za epitel UT i produkciju hemolizina. Simptomi koji se javljaju pri ovom oboljenju su učestalo i bolno mokrenje, koje je ponekad sa napredovanjem infekcije praćeno pojavom krvi i leukocita u mokraći. U slučaju ushodne infekcije, javljaju se bolovi u leđima, a nelečene infekcije mogu preći u bakterijemiju sa kliničkim simptomima sepse.

DIJAREALNE BOLESTI (GASTROENTERITIS). Sojevi ešerihije koje izazivaju dijareju su veoma široko rasprostranjene i na osnovu toksina koje produkuju razlikuju se mehanizmi izazivanja oboljenja, pa samim tim i simptomi. Na osnovu navedenog, postoji pet grupa u koje su svrstane enterotoksin produkujuće ešerihije.

1. *Enteropatogene E. coli* su izuzetno značajni uzročnici dečije dijareje. Ovi sojevi izazivaju akutni gastroenteritis kod odojčadi i male dece. Bolest je posledica mogućnosti bakterije da adherira za plazma membranu enterocita i uništava mikrovile, a ovi sojevi bakterija poseduju dva specifična adhezina. Sojevi nisu invazivni, mada prouzrokuju patološko histološke promene (lezije) crevnog epitela. Kao simptomi javljaju se teška, vodenasta dijareja praćena groznicom i povraćanjem.
2. *Enteroinvazivne E. coli* - vrše invaziju i destrukciju epitela debelog creva. Ne produkuju enterotoksine, već penetriraju u epitelne ćelije sluzokože kolona i u njima se razmnožavaju. Bolest izazvana ovim sojevima je jako slična šigelozii i manifestuje se grčevimau stomaku, groznicom i tipičnim krvavo-sluzavim stolicama.
3. *Enterohemoragične E. coli* - produkuju SLT (shiga like toxin) ili verotoksin, koji može izazvati spektar simptoma, počev od blagih do hemoragičnog kolitisa koji je ozbiljna bolest. Verotoksin deluje na ćelije creva tako što izaziva njihovu nekrozu.
4. *Enteroagregativne* (enteroadherentne) ešerihije su uzrok akutne i hronične dijareje kod dece u nerazvijenim zemljama. Kod odraslih uzrokuju bolest tzv. putničku dijareju, koja traje duže od 14 dana, ali ne dovodi do značajnog oštećenja crevnog epitela. Ovaj tip ešerihija se naziva i enteroagregativna ešerihija po specifičnom obrascu vezivanja za crevni epitel.
5. *Enterotoksične E. coli* - produkuju termolabilne i termostabilne enterotoksine koji izazivaju tzv. „putničku dijareju“. Ona se javlja nakon 1 -2 dana perioda inkubacije i traje 3-4 dana. Simptomi su blagi i obuhvataju grčeve praćene mučninom i povraćanjem, kao i dijarejom.

Rod Salmonella

Salmonele su štapići koji variraju u dužini i kraću se peritriho postavljenim flagelama. Rastu na većini laboratorijskih podloga i ne fermentišu laktozu ni saharozu, dok vrše produkciju H₂S. Danas je prihvaćeno da postoje dve vrste roda *Salmonella*: *Salmonella enterica* i *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* je dalje podeljena na 6 podvrsta na osnovu biohemijskih karakteristika i fenotipskih osobina (litičke osetljivosti na bakteriofag Felix O1): Podvrsta I = *enterica*; Podvrsta II = *salamae*; Podvrsta IIIa = *arizonae*; Podvrsta IIIb = *diarizonae*; Podvrsta IV = *houtenae*; Podvrsta VI = *indica*, od kojih je *S. enterica* subsp. *enterica* najznačajnija jer obuhvata većinu kliničkih izolata. Podvrste se dalje identifikuju kao serotipovi (serovari) koji generalno dobijaju imena na osnovu geografskog porekla izolacije (*S. Kentucky*, *S. Dublin*, *S. Newport*), prema sindromu koji izazivaju (*S. Typhi*, *S. Paratyphi*) ili specifičnim domaćinima (*S. Gallinarium*).

Salmonele su prisutne u svim životinjama i čoveku. Serotipovi poput *Typhi* i *Paratyphi* su visoko adaptirani paraziti čoveka i kod drugih vrsta ne izazivaju bolesti. Druge izazivaju bolesti i kod čoveka i kod životinja (npr. *S. Choleraesuis*).

Faktori virulencije (patogenost). *Fimbrije, adhezini* i mogućnost ulaska u ćeliju domaćina ***posredovanom fagocitozom, tip 3 sekretorni sistem, SPI-1*** koji omogućava ćelijsku invaziju bez fagocitoze i ***SPI-2*** koji omogućava preživljavanje i replikaciju unutar makrofaga.

Epidemiologija. Izvor infekcije je obično ingestija kontaminirane vode ili hrane, ili direktna fekalno oralna ruta koja se najčešće dešava kod dece. Najčešći izvori salmoneloza su živina, jaja i mlečni

proizvodi. Jaja su posebno rizična namirnica jer se pored površinske kontaminacije, salmonella može naći i u unutrašnjosti jaja. Najsigurnija zaštita od zaraze je dobra termička obrada hrane. *S. Typhi* se prenosi rukama zaraženih osoba na hranu koju konzumiraju drugi, zdravi ljudi. Iako je izloženost salmonelama jako česta, bolest se javlja tek ako se unese velika količina bakterija ($>10^6$ /g hrane), što je moguće samo pri nepropisnom čuvanju hrane. Infektivna doza se redukuje sa godinama (stariji i mala deca oboljevaju od manjeg broja unetih ćelija), redukovanim aciditetom želuca, prisutnim hroničnim bolestima ili nekim bolestima imunog sistema.

Klinički sindromi izazvani salmonelom

TIFOIDNA GROZNICA. Ovaj sindrom je izazvan *S. Typhi*, a *S. Paratyphi* uzrokuje blaži vid ove bolesti koji se označava kao paratifoidna groznica. Hranom ili vodom unete salmonele nakon dospevanja u tanko crevo prelaze u limfni sistem i odatle u krvotok. Krvlju dospevaju do mnogih organa, uključujući i creva, gde se umnožavaju u limfoidnom tkivu i izlučuju kroz stolicu u spoljašnju sredinu. Nakon 10-14 dana, javljaju se groznica, glavobolja, konstipacija, bradikardija, mialgija, temperatura dostiže visoke vrednosti a jetra i slezina postaju uvećane. Leukociti su normalnih ili čak smanjenih vrednosti. Uz navedene simptome, javlja se i osip po telu koji se povlači nakon 3-4 dana. Bez terapije se javljaju komplikacije u vidu krvarenja i perforacije creva, a mortalitet je 10-15%.

ENTEROKOLITIS je najčešća manifestacija infekcije salmonelom, koja nastaje 8 do 48 h nakon unosa zaražene hrane. Simptomi su mučnina, povraćanje, glavobolja, grčevi u stomaku i dijareja, ponekad praćeni povišenom temperaturom. Simptomi opstaju 2 - 7 dana do spontanog prestanka simptoma.

SEPTIKEMIJA (SEPSA) se javlja samo kod pedijatrijskih, gerontoloških i ostalih imunokompromitovanih pacijenata.

Asimptomatsko nošenje salmonele se javlja kod 1-5% pacijenata koji su preležali bolest.

Procedura za dijagnostiku

Uzimanje uzorka. Za dijagnozu salmoneloza uzima se uzorak fecesa obolele osobe, dok se u slučaju septikemije uzima uzorak krvi.

Dijagnoza. Postavlja se biohemijskim i serološkim testovima koji se vrše na kulturama izolovanim iz uzoraka fecesa, a koje su prethodno gajene na selektivnim i diferencijalnim podlogama. Serološka identifikacija može se vršiti aglutinacijom na pločici uz primenu polivalentnih i monovalentnih seruma koji sadrže antitela protiv O, H i V antigena.

Kultivacija. Kultivacija se najpre vrši na diferencijalnim podlogama koje razdvajaju bakterije koje vrše fermentaciju laktoze od onih koje je ne koriste (EMB, MacConkey) a selektivno gajenje se može vršiti na podlogama poput SS (Salmonella Shigella) ili XLD (ksiloza lizin dekarboksilaza) agara. Kolonije na diferencijalnim podlogama rastu kao bezbojne (jer ne fermentišu laktozu), dok na SS i XLD agaru imaju crnu boju zbog precipitata koji nastaje usled produkcije H_2S .

Rod Shigella

U okviru roda poznato je četiri vrsta sa više od 40 serotipova. To su: *S. flexneri*, *S. dysenteriae*, *S. boydii* i *S. sonnei*. Na podlozi za 24 h ove bakterije formiraju kolonije koje su konveksne, okrugle i providne, a dijametra su oko 2 mm. Rastu aerobno i ne fermentišu laktozu.

Faktori virulencije (patogenost). Šigele poseduju endotoksin i egzotoksin. Endotoksin se oslobađa nakon autolize i verovatno doprinosi iritaciji zida creva. Šiga toksin je termolabilan egzotoksin koji utiče na CNS i na creva. Tokom prvih 12 sati, šigele kolonizuju tanko crevo i počinju razmnožavanje, pri čemu se oslobađa enterotoksin koji inhibira sintezu proteina u ćelijama. Sluzokoža kolona je usled prisustva bakterija uništena i na njoj nastaju ulceracije. Kao posledica prisustva ovog toksina, javljaju se teška dijareja i smanjena apsorpcija šećera i aminokiselina u tankom crevu. Nakon ingestije šigele dospevaju u crevo i odatle kolonizuju epitelne ćelije. Ulazak u ove ćelije omogućen je indukovanom fagocitozom, nakon čega se oslobađaju iz fagolizozoma i dospevaju u citoplazmu, odakle prolaze i šire se u susedne ćelije. Na ovaj način tako nastaju mikroapscesi u zidu creva koji vode ka nekrozi sluzokože, krvarenju i formiranju pseudomembrana na ulcerisanom području. Kako proces prolazi, granulaciono tkivo popunjava čireve i formira se ožiljno tkivo na crevnoj sluzokoži.

Epidemiologija. Šigeloze (bolesti izazvane ovim vrstama) se najčešće razvijaju kod dece starosti 6 meseci do 10 godina. Bolest se prenosi fekalno-oralnim putem, a ređe hranom ili vodom. Zbog toga se u obdaništima i sličnim institucijama mogu javiti epidemije ove bolesti. Infektivna doza je 10^3 ćelija.

Klinički sindromi izazvani šigelom

ŠIGELOZA. Nakon perioda inkubacije koji traje 1-3 dana, javljaju se iznenadni grčevi u stomaku, visoka temperatura i vodena dijareja (posledica dejstva egzotoksina). Kako se infekcija širi na donje delove digestivnog trakta (ileum i kolon), broj stolica raste i one sadrže sluz, gnoj i krv. Bolest se može spontano povući nakon 3-5 dana, ali se kod male dece i starijih osoba može desiti da gubitak vode i elektrolita dovedu do dehidracije, acidoze, pa i smrti.

Procedura za dijagnostiku

Uzimanje uzorka. Za dijagnozu bolesti se koriste uzorci stolice i bris rektuma.

Dijagnoza. Mikroskopski se u razmazu stolice mogu videti leukociti i eritrociti. Sa kolonija izolovanih zasejavanjem uzorka vrši se biohemijska karakterizacija, nakon čega se serološkom reakcijom određuje serotip šigele koja je izazivač oboljenja.

Kultivacija. Uzorci se zasejavaju na selektivne (SS agar) i diferencijalne agare (Mac Conkey) koji sprečavaju rast drugih gram negativnih bacila i Gram pozitivnih bakterija. Laktoza negativne kolonije se prebacuju na TSI agar. Organizmi koji proizvode kiselinu ali ne i gas u dubini i imaju baznu kosinu, a ne stvaraju H_2S se identifikuju kao šigela.

Rod *Yersinia*.

Kratki, pleomorfni gram negativni bacili koji su katalaza pozitivni, oksidaza negativni, mikroaerofilni ili fakultativno anaerobni. Mnoge žive u životinjama kao prirodnim domaćinima, a kada se nađu u čoveku, uzrokuju ozbiljne bolesti. U okviru roda nalaze se vrste *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* i *Y. enterocolitica*, ali i nekoliko vrsta koje za čoveka nisu patogene.

Yersinia enterocolitica i *Y. pseudotuberculosis*

Ove vrste su Gram negativni štapići koje ne fermentišu laktozu, ureaza positive i oksidaza negativne. Optimalni rast postižu pri temperaturi od 25°C na kojoj su i pokretne, dok se ne kreću na temperaturi od 37°C. Mogu rasti i na temperaturi od 4°C.

Faktori virulencije (patogenost). **Enterotoksin** u kombinaciji sa ostalim faktorima virulencije karakterističnim za pripadnike familije *Enterobacteriaceae*.

Epidemiologija. *Y. enterocolitica* je do sada izolovana iz domaćih i divljih životinja, riba, mleka kao i sa voća, povrća i iz vode. Ova bakterija je čest uzrok enterokolitisa u skandinavskim i severnoevropskim zemljama, kao i u hladnijim delovima severne Amerike (ovo se poklapa sa povećanom metaboličkom aktivnošću bakterije pri 22-25°C). Utvrđeno je ostojanje više od 70 serotipova ove bakterije, ali su serotipovi O:3, O:8 i O:9 povezani sa humanim infekcijama. Više od 90% infekcija vrstom *Y. enterocolitica* je povezano sa konzumacijom kontaminiranog mleka, mesa ili vode. Da bi došlo do infekcije, potreban je unos $10^8 - 10^9$ ćelija jersinije.

Y. pseudotuberculosis se takođe prenosi sa životinja na čoveka konzumacijom proizvoda kontaminiranih fecesom.

Klinički sindromi

ENTEROKOLITIS. Kod infekcije izazvane vrstom *Y. enterocolitica*, tokom inkubacionog prioda koji traje 4-10 dana, bakterije kolonizuju crevnu sluzokožu, što dovodi do zapaljenja i ulceracije, a proces se može proširiti do mezenteričnih limfnih čvorova. Zapaljenski proces u ileumu i mezenteričnim limfnim čvorovima dovode do bola u stomaku koji veoma podseća na bolove koji se javljaju pri apendicitisu. Nastalo oboljenje se karakteriše povišenom temperaturom i dijarejom uz već pomenute bolove u stomaku, koji perzistiraju i 1-2 nedelje.

Infekcija vrstom *Y. pseudotuberculosis* ima simptome slične prethodnoj bakteriji, sa tom razlikom što se bolest zadržava na limfnim čvorovima, dok zapaljenje creva odsustvuje. Utvrđeno je da postoji 6 serotipova, od kojih je O:1 odgovoran za najveći broj humanih infekcija.

BAKTERIJEMIJA UZROKOVANA TRANSFUZIJOM. Nastaje kao posledica sposobnosti bakterije da se razmnožava na niskoj temperaturi, pa se dešava da ukoliko postoji u krvi donora, tokom skladištenja dođe do umnožavanja i posledične bakterijemije osobe koja je primila tu krv.

Procedura za dijagnostiku

Uzimanje uzorka. Za dijagnozu bolesti se koriste uzorci stolice i krvi.

Dijagnoza. Postavlja se na osnovu porasta jersinije iz kliničkog uzorka, koji se zatim serološki određuje do tačnog serotipa.

Kultivacija. Kliničke laboratorije koriste cefsulodin irgazan novobiocin selektivni agar na kome kolonije jersinije imaju belih kolonija sa crvenim centrom.

Yersinia pestis

Y. pestis je bakterija koja se prenosi sa među glodarima, ali se može preneti i na čoveka sa glodara, gde je vektor prenosa buva. Ona uzrokuje kugu ili crnu smrt, bolest koja je više puta u istoriji uzrokovala pandemije i desetkovala ljudsku populaciju. Prvi zapis o epidemiji ove bolesti javlja se u šestom veku kada je od ove bolesti umrlo 100 miliona ljudi.

Bakterija je Gram negativni bacil koji se boji bipolarno primenom specijalnih bojenja poput Gimza bojenja ili bojenja metilenskim plavim. Nepokretna je i kao fakultativni anaerob raste na većini hranljivih podloga, ali je rast najbolji na agarima obogaćenim krvlju ili tkivnim eksudatima. Kolonije koje se javljaju su male, sive i viskozne, a imaju malo biohemijskih aktivnosti koje su varijabilne, pa nisu kriterijumi za identifikaciju.

Faktori virulencije (patogenost). *Lipopolisaharidi* imaju endotoksičnu aktivnost kada se oslobode iz ćelije, dok *V i W* proteini koji su kodirani na plazmidu imaju antigenu funkciju. **Plazminogen aktivirajuća proteaza** ima temperaturno zavisnu koagulaznu (20°–28°C, temperatura tela buve) i fibrinolitičku aktivnost (35°–37°C, temperatura domaćina). Ovaj faktor je od osnovnog značaja za raznošenje infekcije putem ujeda buve. **Kapsularni protein** se produkuje na 37°C i omogućava izbegavanje fagocitoze, a **fosfolipaza D** omogućava bakteriji preživljavanje u crevnom sistemu buve. Na kraju, **jersinijabaktin** je siderofor zadužen za obezbeđivanje gvožđa bakterijskoj ćeliji.

Epidemiologija. Veoma je kompleksna, a zaraza ljudi se može desiti usled kontakta sa divljim životinjama, domaćim životinjama ili obolelim ljudima. Bacil kuge se može naći kod oko 200 vrsta sisara, ali su najčešći izvori humane kuge pacovi, veverice i zečevi (glodari). Buve na njima se inficiraju, tj. aspiriraju njihovu krv u kojima se nalazi bacil kuge, a zatim se bacil umnožava u njihovom crevnom sistemu. Produkcijom koagulaze blokira se proventrikulus (ezofagus buve), pa hrana ne može da dospe u želudac. Iz ovog razloga, gladna buve ujeda još češće u cilju da se nahrani, a prilikom ujeda bacil dospeva u ranu. Za infekciju je dovoljno 3-50 ćelija, dok prenošenje može biti i direktnim kontaktom ili inhalacijom respiratornih kapi obolele osobe. Bakterija se umnožava u makrofagima, dospevaju do limfnih čvorova i tamo dovode do teške hemoragične inflamacije koja može preći u nekrozu. Bolest odatle dospeva u krvotok i širi na ostale organe, gde može desiti isti proces zapaljenja i nekroze na bilo kom organu, a najčešće su zahvaćeni mozak, pluća i srce.

Klinički sindromi kuge

Klinička manifestacija kuge zavisi od načina ulaska bakterije u organizam, pa se razlikuju tri forme ove bolesti: *bubonska*, *septikemijska* i *pneumonijska* kuga.

BUBONSKA KUGA. Kod bubonske kuge, bakterije dospevaju do limfnih čvorova, tamo se umnožavaju i izazivaju njihov otok i nekrozu. Otečeni limfni čvor se tada naziva bubo i vidi se na preponama i ređe na aksilama. Period inkubacije traje 2-8 dana a kao simptomi se javljaju groznica, drhtavica, glavobolja i osetljivost limfnih čvorova na preponama. U ranoj fazi bolesti kao simptomi javlju se i povraćanje i dijareja. Kasnije, kada je bolest proširena na ostale organe, usled intravaskularne koagulacije javljaju se hipotenzija, promenjeno mentalno stanje, kao i zastoj rada bubrega i srca. U terminalnoj fazi bolesti, mogu se javiti simptomi pneumonije i meningitisa. Kao česta posledica progresije bubonske kuge javlja se septikemijska kuga.

SEPTIKEMIJSKA KUGA. Kod ovog oboljenja bakterije se šire krvotokom i javljaju se intravaskularna koagulacija, potkožna krvarenja (hemoragije) koja mogu preći u nekrozu i gangrenu. Zbog vidljivog tamnjenja kože na tim mestima, kuga se zove i "crna smrt" (mortalitet u >75%).

PNEUMONIJSKA KUGA predstavlja infekciju koja počinje u plućima i koja je izuzetno zarazna, tj. lako se prenosi putem kapljica i sputuma. Rezultat je direktne inhalacije organizma u pluća. Simptomi se javljaju naglo i veoma brzo progresiraju, a predstavljeni su bolom u grudima, kašljem, iskašljavanjem krvi i ozbiljnim poremećajem funkcije pluća. Bez antibiotske terapije bolest je smrtonosna zbog sepse koja nastupa, a letalni ishod se javlja posle 2-4 dana (>90% mortalitet).

Procedura za dijagnostiku

Uzimanje uzorka. Za dijagnozu bolesti uzorci koji se uzimaju su krv i aspirati iz limfnih čvorova, dok se kod pneumonije uzima sputum za razmaz i kultivaciju.

Dijagnoza. Na ovu bolest se sumnja kod febrilnih pacijenata sa pomenutim simptomima, koji su bili izloženi glodarima u endemskim područjima poznatim po pojavama kuge. Brza potvrda su od velikog značaja za ishod bolesti. Na razmazu materijala iz buboa, sputuma ili pozitivne krvne kulture se vide Gram negativni bacili koji se javljaju pojedinačno, ređe kao parovi ili kraći lanci. Karakterističan je izgled zihernadle zbog specifičnog bojenja po Gimzi ali ne i po Gramu. Kulture dobijene iz uzoraka se potvrđuju biohemijskim testovima. Bacil kuge ne fermentiše laktozu, bolje raste na 25 nego na 37°C, katalaza pozitivan je, indol, oksidaza i ureaza negativan i ne kreće se. Poslednje dve reakcije omogućavaju razlikovanje *Y. pestis* od ostalih patogenih jersinija.

Kultivacija. Kultivacija se vrši na krvnom, čokoladnom, MacConkey ili BH agaru. Rast često zahteva kultivaciju od 48 h, ali se kulture krvi vide kao pozitivne već nakon 24 h, nakon čega se vrši biohemijska potvrda.